

THESIS

MUNICH

1966

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN
ZUR ZYTODIAGNOSTIK
DER VAGINALEPITHELIIEN

Monika Christiane Scheller

LANE MEDICAL LIBR.
STANFORD UNIVERSI
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AUS DEM INSTITUT FÜR GERICHTLICHE MEDIZIN UND
VERSICHERUNGSMEDIZIN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Professor Dr. W. Laves

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ZUR ZYTODIAGNOSTIK

DER VAGINALEPITHELIIEN

I N A U G U R A L - D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

verfaßt und

einer Hohen Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Monika Christiane Scheller

aus Berlin

München 1966

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. W. Spann
Mitberichterstatter: Prof. Dr. W. Laves
Dekan: Prof. Dr. R. Zenker

Tag der mündlichen Prüfung: 14.6.1966

MEINEM GROSSVATER

Dr. med. Adolf Hart

MEINER LIEBEN MUTTER

Frau Dr. Scheller

I N H A L T

I.	Einleitung	Seite	1
II.	Theoretische Vorbemerkungen		3
III.	Experimenteller Teil		23
	1) Cytologische Untersuchungen		23
	2) Cytochemische Untersuchungen		38
IV.	Diskussion		44
V.	Zusammenfassung		46
VI.	Literatur		48

Einleitung

Verschiedene Untersuchungsrichtungen der Chemie, Biochemie, Pharmakologie und insbesondere der Toxikologie führten zur Ausarbeitung einer Vielzahl von Nachweismethoden für anorganische und organische Substanzen, die für die forensische Medizin von größter Bedeutung sind. In diesem Zusammenhang sei an den Nachweis von Giften, wie sie bei absichtlicher, unabsichtlicher, gewerblicher, ökonomischer und medizinaler Intoxikation des menschlichen Organismus auftreten können, erinnert. Gleichermaßen stellen die serologischen und immunoelektrophoretischen Untersuchungsmethoden der Blut- und Eiweißchemie in der gerichtlichen Medizin heute unentbehrliche Hilfsmittel dar.

Der mikroskopische Nachweis von Zellen in Exkreten hat viele Untersuchergruppen über Jahrzehnte beschäftigt. Er stellt im Falle des Spermas durch Darstellung der Spermatozoen mit entsprechenden Färbelösungen häufig den einzigen objektiven Beweis bei Sittlichkeitsdelikten dar. Weit weniger sicher und spezifisch gelingt der mikroskopische Nachweis von Vaginalepithelien, da die Abgrenzung gegenüber Plattenepithelien aus anderen Organbezirken und morphologisch ähnlichen Übergangsepithelien differentialdiagnostisch große Schwierigkeiten bereitet.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, in vergleichenden Untersuchungen nach den Methoden der Cytodiagnostik die Vaginalepithelien mit verschiedenen Färbemethoden auf ihre Besonderheiten und damit mögliche Abgrenzung gegenüber anderen Epithelien zu prüfen, und mit Hilfe eines cytochemischen Tests einen sicheren Nachweis für Vaginalepithelien zu erbringen.

II. Theoretische Vorbemerkungen

Bereits gegen Ende des letzten Jahrhunderts wurde von Schiele (35), Langhans (19) u.a. auf das Vorkommen stark glykogenhaltiger Plattenepithelien in der Vagina hingewiesen. Dieser auffällige Glykogengehalt wurde schon sehr frühzeitig wegen der forensischen Bedeutung, die dem Nachweis von Vaginal-epithel oder dem ebenfalls glykogenhaltigen Vaginalsekret zukommt, zur Identifizierung von Spuren verwandt. So gelang es Wiegmann (43) in einer mit Vaginalsekret befleckten Stoffprobe mit Hilfe der Jodreaktion noch nach Jahren den Glykogennachweis zu führen.

Mehrere Arbeitsgruppen, die sich bis in die jüngste Zeit mit dem Nachweis glykogenhaltiger Zellen im menschlichen Organismus befaßten, konnten über das Vorkommen dieses Polysaccharids in den Zellen der verschiedensten Organe durch Darstellung mit besonderen Färbemethoden berichten. So konnte gezeigt werden, daß nach der Leber die Vagina das glykogenreichste Organ darstellt.

Die für die vorliegende Arbeit wichtigen Zellarten, ihre morphologische Struktur und ihre Lokalisation im Organismus sollen, soweit ihnen differentialdiagnostische Bedeutung zukommt, im einzelnen näher betrachtet werden.

Das Vaginalepithel stellt ein normalerweise nicht verhornendes Plattenepithel dar, das auf Grund seiner Morphologie und Zellanordnung im mikroskopischen Schnittpräparat in mehrere Schichten unterteilt werden kann. Die unterste, dem Bindegewebe aufliegende Schicht wird in der Histologie als Stratum cylindricum, dessen Zellen in der Cytologie als Basalzellen bezeichnet. Hierauf folgt das Stratum spinosum profundum, das aus mehreren Lagen rundlicher oder leicht polyedrischer Zellen mit relativ großen Kernen besteht, die in der Cytologie als Parabasalzellen bezeichnet werden. Die nächstfolgende Schicht, das Stratum spinosum superficiale oder Intermediärschicht, imponiert durch abgeplattete Epithelien, deren Kerne bezüglich der der Parabasalzellschicht von geringerer Größe sind. Zwischen dieser Intermediärschicht und den oberen Epithelschichten findet sich im Schnittpräparat die von Dierks ⁽¹⁰⁾ benannte Verhornungs- oder Verdichtungszone. Diese besteht aus wenigen Lagen flacher Zellen mit pyknotischen Kernen. Den obersten Abschluß des Vaginalepithels bildet das Stratum corneum oder die Superficialzellschicht mit großen flachen Zellen und pyknotischen Kernen. Diese oberste Schicht zeigt unter dem Einfluß der Ovarialhormone sichtbare zyklische Veränderungen und wurde deshalb von Dierks ⁽¹⁰⁾ analog der Schleimhaut des Uterus als Funktionalis bezeichnet, die darunter liegenden Schichten als Basalis.

Im cytologischen Abstrichpräparat entsprechen den fünf histologisch differenzierten Zellschichten vier cytologisch differenzierbare Zellarten, deren jeweiliger Zelltyp im folgenden eingehender betrachtet werden soll.

Die den untersten Zellschichten angehörende sogenannte Basalzelle erscheint nur selten, bei Läsionen oder Atrophie des Vaginalepithels etwas häufiger, in runder oder ovaler Form im Ausstrich und stellt die kleinste hierbei gefundene Epithelzelle dar. Ihr Durchmesser beträgt das zwei- bis dreifache eines polymorphkernigen Leukozyten. Der Kern dieses Epitheltyps ist relativ groß, rund bis oval und in der Regel zentral gelegen. Im Gegensatz zu den Parabasalzellkernen erscheint er mehr bläschenförmig als strukturiert. Die Parabasalzellen sind morphologisch etwas größer als die Basalzellen, zeigen jedoch mannigfaltigere Variationen in ihrer Form. Im Plasma der Parabasalzellen finden sich im frischen Ausstrich neben ein oder zwei Nukleolen kleine und größere Vakuolen, die manchmal eine Verdrängung des dadurch abgeplatteten Kernes - in der Regel relativ groß und zentral gelegen - an den Zellrand bewirken. Die Parabasalzellen erscheinen im normalen Ausstrichpräparat geschlechtsreifer Frauen, außer bei Epithelverletzungen, nur einzeln oder in kleinen Gruppen. Sie werden aber vorwiegend in Ausstrichen junger Mädchen bis zum Eintritt der Pubertät und von

Frauen jenseits der Menopause angetroffen. Bei beginnender Autolyse und bei Austrocknungserscheinungen imponieren die Parabasalzellen als große blasse Zellen mit zartem, etwas gedunsen aussehendem Kern. Post partum findet man gleichermaßen benannte Zellen mit relativ großem, oft randständig gelagertem Kern, der häufig Fältelungen aufweist und stark pyknotisch ist.

Die größten Schwankungen in Größe und Form innerhalb eines Epitheltyps betreffen die Zellen der Intermediärschicht, wozu alle mittelgroßen Zellen des Plattenepithels gerechnet werden, die nicht zur Gruppe der Parabasal- oder Superfizialzellen gehören. Man unterteilt diese Zellen in große und kleine Intermediärzellen und klassifiziert damit die verschiedenen Reifegrade des Epithels. Die kleinen Intermediärzellen sind leicht polyedrisch und neigen dazu, sich zu strecken. Sie sind im Vergleich mit den Parabasalzellen größer und im Zellkörper flacher, im Vergleich mit den großen Intermediär- und Superfizialzellen meist dicker und an der Oberfläche fein gerippt. Das Cytoplasma einzelner kleiner Intermediärzellen ist stark vakuolisiert, während die Kerne, meist groß und bläschenförmig, in der Mitte, in selteneren Fällen excentrisch angeordnet sind. Die Intermediärzellen des großen Typs dagegen gleichen in ihrer polygonalen Form und Größe fast völlig den Superfizialzellen und unterscheiden sich von den letzteren hauptsächlich durch

einen bläschenförmigen Kern, der ähnlich dem der kleinen Intermediärzellen eine feine Strukturierung aufweist. Die Intermediärzellen finden sich prä- und postmenstruell, in geringerer Größe und als sogenannte Navicularzellen in der Schwangerschaft, unter androgener Hormonwirkung, bei hypofollikulinen Zuständen, sowie in der Menopause im vaginalen Ausstrichpräparat.

Mit zunehmender Ausreifung des Plattenepithels werden die Kerne der Zellen pyknotisch, wie es bei den Superfizialzellen zu beobachten ist. Es sind die größten, im Vaginalabstrich als zarte Schollen imponierenden Zellen von polygonaler Form und mit scharf begrenzten Zellrändern, die unregelmäßig umrissen und eingekerbt sein können. Das Cytoplasma dieser Zellen ist im allgemeinen hell durchscheinend und läßt bis auf wenige Granulareinlagerungen strukturelle Anteile oder Vakuolisierung vermissen. Vereinzelt sieht man einen perinukleären Hof.

Bei Prolapsus vaginae oder nach einer stattgehabten Kohabitation finden sich im Abstrich zarte, unregelmäßig gefaltete Epithelien, die in scholligen Gruppen angeordnet und deren Kerne nur schwach oder überhaupt nicht sichtbar sind. Zelltypen dieser Art werden als vollständig verhornt bezeichnet und sind entweder auf Grund besonderer mechanischer oder thermischer Beanspruchung im Vaginalepithel selbst entstanden oder von außen eingeschleppt worden.

Wie neueste Untersuchungen von Matter (22) über die Glykogenverteilung im Vaginalepithel ergeben haben, ist die Basal- und Parabasalzone stets frei von Glykogen. Von den unteren Intermediärzellen ab nimmt der Polysaccharidgehalt zu, und erreicht sein Maximum in der Cornificationszone. Je mehr die Abplattung der Epithelien der verhornenden Oberfläche zunimmt, desto stärker wird die Intensität der Perjodsäurereaktion. Diese verstärkte Perjodsäurereaktion der abgeplatteten Epithelien dürfte auf dem Vorhandensein von enzymatisch schwer abbaubarem Glykogen (Botella-Llusia und Nogales (5)) und einer bestehenden diastaseresistenten Restaktivität (Stoll et al. (40)) beruhen. Nach Ebner (13) ist diese Restaktivität reversibel acetylierbar.

Den besonders reichen Glykogengehalt der mittleren Epithelschichten bringt Merkel (24) damit in Zusammenhang, daß die betreffenden Zellen zwar noch einen lebhaften Stoffwechsel aufweisen, aber von der direkten Blutversorgung abgeschnitten sind. Damit wird zum ersten Mal die Vermutung geäußert, daß die Epitheldicke bedeutsam für das Glykogenvorkommen innerhalb des Vaginalepithels sein könnte. In den folgenden Jahren wurde wiederholt nach einer Erklärung für den Zusammenhang zwischen Glykogengehalt und Epitheldicke gesucht. Davis und Pearl (8) nahmen erstmalig an, daß ein direkter Zusammenhang

zwischen Epitheldicke einerseits und Glykogengehalt andererseits vorliegt. Aus Befunden nach therapeutisch erzeugtem Hyperöstrinismus gelangt Ayre ⁽²⁾ zu der Feststellung, daß östrogene Stoffe weniger den Glykogenstoffwechsel im Vaginalepithel, als vielmehr das Wachstum und die Höhe des Epithels beeinflussen. Der Glykogengehalt ist somit von der Struktur des Epithels abhängig und keine direkte Folge der Follikulinämie. Die unterschiedlichen Zelltypen im Ausstrich entstehen hiernach durch den Differenzierungsgrad des Epithelwachstums, das seinerseits allerdings vom Östrogen abhängt. Bei intakter hyperkeratotischer Schicht ist der Abstrich glykopenisch, bei freiliegender Intermediärschicht findet sich reichlich Glykogen und beim Zutagetreten der Basalschicht wird das Zellbild wieder glykopenisch.

Das Glykogenvorkommen in der Scheide ist somit direkt vom Epitheltypus und indirekt von der Ovarialfunktion abhängig. Der Einfluß des Ovars wurde vor allem experimentell am Affen von Robertson et al. ⁽³⁰⁾ untersucht, wobei erhöhte Glykogenmengen nach Östrogeninjektionen auftraten. Die Befunde gleichen denen, die an der menschlichen Vagina nach der Menopause gemacht wurden. (Davis ⁽⁷⁾). Der im Vergleich zur kindlichen Vagina hohe Glykogengehalt der fetalen und Neugeborenen Vagina findet ebenfalls seine Erklärung durch die Wirkung des mütterlichen Ovarial-

hormons.

Das Follikelhormon stimuliert den Epithelaufbau. Sani ⁽³²⁾ findet in der Proliferationsphase Glykogen vor allem in den mittleren und oberflächlichen Epithelschichten. In den letzteren ist es gegen die Ovulation hin nicht mehr nachweisbar. In der Sekretionsphase wird die Oberflächenschicht abgestoßen und die noch polysaccharidreichere Intermediärzone freigelegt (Schramm ⁽³⁶⁾). Progesteron hat keinen großen Einfluß auf den Glykogengehalt der Vagina, sondern bewirkt lediglich eine Verdickung der mucifizierenden Oberflächenschicht.

Die Wirkung des mütterlichen Follikelhormons läßt sich, wie schon oben kurz angedeutet, noch beim Neugeborenen nachweisen. Kurz nach der Geburt ist das Vaginalepithel hoch und weist über der Zone der Basal- und Parabasalzellen eine Schicht relativ voluminöser und "durchsafteter" Zellen auf, die reich an Glykogen sind. Die Rückbildung und Desquamation der oberflächlichen Schichten beginnt bereits nach 24 Stunden (Alexiu ⁽¹⁾) und dauert 2-3 Wochen bis nur noch wenige Zellschichten nachweisbar sind. Der Abnahme der Epithelhöhe parallel läuft diejenige des Glykogengehalts. Im 2.-3. Lebensmonat bildet sich die physiologische Hypoplexie mit atrophischem Epithelbild aus. Während des gesamten Kindesalters

bleibt die Vaginalschleimhaut glykogenfrei (Schramm (36)). Das mehrschichtige Plattenepithel geringer Dicke ruht, ist aber unter dem Einfluß von Östrogen jederzeit zum Epithelwachstum und zur Glykogenbildung fähig. Spontan tritt Glykogen erst in der Zeit der Pubertät - heute um das 10. Lebensjahr - mit dem Einsetzen der Geschlechtsreife, aber noch vor dem Eintritt der ersten Menstruation auf (Herrenberger und Horstmann (17)).

Während der Geschlechtsreife ist das Epithel hoch. Noch in der Menses beginnt eine Proliferation, bei der die Epithelhöhe durch Vermehrung der Zellagen, sowie durch Vergrößerung der Zellen zunimmt. Gleichzeitig steigt der Glykogengehalt an, bis sich um den 15. Tag nach Beginn der Menses das Vaginalepithel voll entwickelt und seine größte Höhe erreicht hat. Mit dem Einsetzen der Luteinphase im Anschluß an die Ovulation treten am Vaginalepithel regressive Veränderungen auf. Die oberflächliche Schicht, die zum Teil kornifiziert sein kann, beginnt sich durch Turgorverlust der Zellen und Desquamation zu vermindern. Die Dierksche Zone ist im histologischen Schnitt nur noch ganz schwach sichtbar oder verschwindet ganz. Praemenstruell ist die Rückentwicklung des Vaginalepithels, die auch auf Kosten der intermediären und parabasalen Zellen vor sich geht, am weitesten fortgeschritten. Dadurch gelangen Va-

ginalepithelien aus den stark glykogenhaltigen Epithelschichten in das Ausstrichpräparat und lassen Rückschlüsse auf das Zyklusgeschehen zu.

In der Gravidität ist das Vaginalepithel besonders hoch (ca. 30 Schichten) und zeigt gegenüber dem zyklusabhängigen Glykogengehalt der Scheide geschlechtsreifer Frauen eine gesteigerte Glykogensynthese (Pundel⁽²⁹⁾, Schramm⁽³⁶⁾), die sich vor allem in der Intermediärschicht, speziell perinukleär, abspielt. Kurz vor der Niederkunft nimmt die Epithelhöhe bei gleichbleibender Glykogenmenge ab. Zwei Wochen post partum findet man ein zurückgebildetes, glykogenfreies Vaginalepithel und erst vier bis sechs Wochen post partum bei beginnender Proliferation eine erneute Glykogensynthese.

Mit dem Klimakterium beginnen die regressiven Veränderungen an den Ovarien und an der Vaginalschleimhaut. Dieser Prozeß ist individuell sehr verschieden und vermag sich über Jahre hinzustrecken. Die Zahl der Zellen nimmt ab, die Zellen werden kleiner, bis sich schließlich im Senium ein völlig atrophisches, nur aus einigen Lagen basaler Zellen bestehendes Epithel findet. Positive Glykogenbefunde in der Vaginalschleimhaut lassen sich bei erhalten gebliebener ovarieller Restfunktion noch Jahre jenseits der Menopause erheben (Gisbertz⁽¹⁵⁾, Mc Laren⁽²³⁾ und Sani⁽³³⁾).

Aus diesen vielfältigen Untersuchungsergebnissen geht hervor, daß das Glykogenvorkommen im Vaginal-epithel individuell, konstitutionell und selbst beim gleichen Individuum innerhalb des ablaufenden Zyklus außerordentlichen Schwankungen unterliegt.

Das Glykogenvorkommen in den einzelnen Abschnitten der Vagina weist, entsprechend der unterschiedlichen Höhe des Scheidenepithels, eine bemerkenswerte Variationsbreite auf. Letztere äußert sich im Sinne einer Abnahme von der Portio bis zum Scheidenvorhof. Dabei beteiligt sich das Hymenalepithel ebenfalls an den zyklischen Veränderungen. Wie in der Vagina, so beschränkt sich der Glykogenstoffwechsel auch im äußeren Genitale auf die oberflächlichen Schichten des Epithels. Die Basalzellschicht bleibt frei (Takamura et al.⁽⁴¹⁾).

Das Epithel der Labia minora ist an der Innenfläche noch glykogenhaltig, während das Epithel der Labia majora nach Lajos und Pali⁽¹⁸⁾ keine Polysaccharidreaktion mehr zeigt, also unter den äußeren Einflüssen vermutlich den Charakter der Epidermis angenommen hat.

Extravaginales unverhorntes Plattenepithel

Das an mehreren Stellen im Körper vorkommende unverhornte mehrschichtige Plattenepithel besitzt generell die Fähigkeit zur prosoplastischen Cornification (Schiller⁽³⁴⁾), die nur unter bestimmten Umständen und Voraussetzungen eintritt. Außerdem besitzt dieses Plattenepithel ebenso jene Eigenschaften, wie sie für das Epithel der Vagina oben näher ausgeführt wurden. Dabei steht die Keratinisation im umgekehrten Verhältnis zur Glykogensynthese. Unverhorntes mehrschichtiges Plattenepithel findet sich - soweit es für die vorliegende Problemstellung differentialdiagnostisch von Interesse ist - in der Schleimhaut der Mundhöhle und des Ösophagus, den Stimmlippen des Kehlkopfes, der Pars analis des Rectums und der Fossa navicularis der männlichen Harnröhre.

Das Epithel der Mundhöhle unterliegt einer fortwährenden mechanischen Beanspruchung, die eine entsprechend starke Regeneration - durch mitotische Teilung der Zellen in der Basalis - notwendig macht. Die abgeflachten oberflächlichen Zellen mit ihren pyknotischen Kernen werden in die Mundhöhle abgeschnürt und dem Speichel beigemengt. Nach dem Grad der mechanischen Beanspruchung schwankt die Dicke des Plattenepithels zwischen 200 und 500 μ (Baremann⁽³⁵⁾).

Die Zellen der mittleren und oberflächlichen

Zonen enthalten im Gegensatz zu Merkel⁽²⁴⁾ auch beim Erwachsenen Glykogen. Nach elektronenmikroskopischen Untersuchungen von Themann⁽⁴²⁾ findet die Glykogensynthese in der Mundschleimhaut im Stratum spinosum statt. Der Glykogengehalt nimmt oberflächenwärts zu. Das Polysaccharid ist nach Themann⁽⁴²⁾ gleichmäßig im Cytoplasma verteilt und weist keine besonders charakteristische Lagerung innerhalb der Zelle, beziehungsweise des Plasmas auf. Nach seinen Untersuchungen besitzen selbst abgeschilferte Zellen aus den obersten Lagen des Stratum spinosum noch relativ reichliche Glykogenmengen. Doch findet er daneben auch an der Oberfläche absolut glykogenfreie Epithelzellen. Die Bedeutung des Glykogens sieht Themann⁽⁴²⁾ in einem Energiereservoir, das unter bestimmten Umständen, beispielsweise im Falle einer Verhornung mobilisiert werden kann.

Der Glykogengehalt, der in den Schleimhautwucherungen besonders hoch ist, hört dort auf, wo die Keratinisation beginnt, d.h. beim Menschen im Bereich des Lippenrots (Schramm⁽³⁶⁾). Dabei soll die Unterlippe weniger Glykogen enthalten als die Oberlippe. Den Grund hierfür sieht Simon⁽³⁷⁾ in der intensiveren Speichelbenetzung der Unterlippe.

Das Epithel der Zunge und der Gingiva sind ebenfalls glykogenhaltig. Bei Entzündungen der Gingiva ist das Polysaccharid im Stratum spinosum und granulosum deutlich vermehrt (Dewar⁽⁹⁾).

Das Rachenepithel weist alle Eigenschaften und

Charakteristika des mehrschichtigen unverhornten Plattenepithels auf, jedoch ist die Beobachtung von Clara⁽⁶⁾ interessant, daß es beim Eindringen von Lymphozyten in das Plattenepithel, zum Beispiel der Tonsillen, zum völligen Schwund des Glykogens in erster Linie in den Durchwanderungszonen kommt.

Auch im mehrschichtigen Stimmbandepithel des Erwachsenen ist Glykogen nachgewiesen worden (Simon⁽³⁷⁾, Schramm⁽³⁶⁾). Das Gleiche gilt für das Epithel des Kehldeckels auf der lingualen Seite, mit Ausnahme der Basalis (Patzelt⁽²⁶⁾).

Nach Untersuchungen von Schramm⁽³⁶⁾ ist die Schleimhaut des Ösophagus als Plattenepithel ebenfalls glykogenhaltig und somit, wie an den anderen Stellen, an die Gesetzmäßigkeit des intrazellulären Glykogenstoffwechsels gebunden.

Die Pars analis recti wird in drei histologisch verschieden aufgebaute Zonen unterteilt: 1. die Zona columnaris, auf die hier nicht eingegangen werden soll, 2. die Zona intermedia und 3. die Zona cutanea.

Die vom Ektoderm abstammende Zona intermedia liegt über dem Musculus sphincter ani internus und bildet den Anulus haemorrhoidalis. Sie besteht aus einer rund ein cm breiten, dünnen Lage mehrschichtigen unverhornten Plattenepithels, das an einigen Stellen eine geringe Keratinisation aufweisen kann.

Die Zona cutanea, über dem Musculus sphincter ani

externus, ist bereits mäßig verhornt und pigmentiert.

Unverhorntes mehrschichtiges Plattenepithel kommt schließlich auch im distalen Abschnitt der Fossa navicularis der männlichen Harnröhre vor. Inseln von Plattenepithel im Cylinderepithel findet man bereits proximal von der Fossa navicularis.

Für die forensische Medizin ist in diesem Zusammenhang nicht nur das mehrschichtige unverhornte oder nur geringfügig verhornte Plattenepithel differentialdiagnostisch von Interesse, sondern darüber hinaus alle jene Epithelzellen, die, aus ihrem Verband gelöst, große Ähnlichkeit mit den Plattenepithelzellen besitzen. Dies ist vor allem beim Übergangsepithel der ableitenden Harnwege- beim Manne bis zur Mündung der Ductus ejaculatorii, bei der Frau bis zum Vestibulum vaginae - der Fall.

Übergangsepithel

Beim Übergangsepithel der Harnblase werden die Zellen, zur Oberfläche hin vermehrt, durch den wechselnden, von der Füllung der Blase abhängigen Dehnungszustand laufend von der platten in die kubische Form und umgekehrt verwandelt. Bei dieser Zellverformung beobachtet man im Schnittpräparat auch eine Verschiebung der Kerne im Cytoplasma, sowie eine

Zellverformung der Kerne. Die Deckzellen flachen bei der Dehnung ab und ihr Cytoplasma wird streifig verdickt. Die tieferen Zellschichten dagegen erfahren weniger eine Zellverformung, als eine Umordnung ihrer Elemente. Eine weitere Funktion scheint den Deckzellen zuzukommen: sie sind vor allem durch eine lebhafteste, wahrscheinlich auch sekretorische Stoffwechselaktivität gekennzeichnet, die sich in einem auffallenden Gehalt an Glykogen und Phosphatase, sowie in der Zwei- und Mehrkernigkeit äußert. Man kann annehmen, daß der Glykogenbestand des Übergangsepithels zur Bildung von Harnmucoid dient, das nach Überführung in eine schwerlösliche Form als Schutz gegen den hypertonen Urin dient. In histologischen Schnitten wurde vor allem in den mittleren Epithelschichten der Harnblasenschleimhaut reichlich Glykogen gefunden, während in den basal gelegenen Epithelzellen unterschiedliche Glykogenmengen auftraten.

Bereits um die Jahrhundertwende wurde von Simon⁽³⁷⁾ auf das glykogenreiche Harnröhrenepithel hingewiesen. Nach seinen Beobachtungen nimmt der Glykogengehalt in den Epithelien der Harnröhre gegen das Orificium urethrae externum hin zu.

Der Glykogengehalt der Epithelien aus den angeführten Organen, bzw. Organbezirken ist nicht

einheitlich, doch stellt er das gemeinsame Charakteristikum dieser Zellen dar und kann demnach mit entsprechenden Färbemethoden zum Nachweis herangezogen werden.

An dieser Stelle soll kurz auf die intrazelluläre Glykogenverteilung im Cytoplasma eingegangen werden, da - nach über 60-Jährigen sich stets widersprechenden Befunden und Theorien - in neuerer Zeit mit Hilfe elektronenmikroskopischer Untersuchungen mehr Klarheit in diesen Problemkreis gebracht werden konnte. Mit Ausnahme der menschlichen Uterindrüsen, die ein glykogenhaltiges Drüsensekret absondern (Forbes und Heinz⁽¹⁴⁾), ist das Glykogen in der Regel stets intrazellulär gelagert. Dabei liegt das Glykogen nach neueren licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen sowohl in submikroskopischen Partikeln, oder an solche Partikel gebunden, als auch in gelöster Form im Cytoplasma vor, jedoch nicht wirklich homogen - wie vielfach angenommen wurde -, sondern tropfig netzig an bestimmte Strukturen im Cytoplasma gebunden und verteilt. Die im Mikroskop auffallende vergrößerte granuliert erscheinende Form stellt ein durch die Fixation bedingtes Artefakt dar.

Eine der ältesten und technisch leicht durchführbaren Glykogennachweismethode mit Lugolscher Lösung geht auf Claude Bernard⁽⁴⁾ zurück. Sie ge-

wann in Form der verdünnten Jod-Jodkalilösung nach den Untersuchungen von Wiegmann⁽⁴³⁾ und Merkel⁽²⁴⁾ zum Nachweis von Vaginalepithel in Spuren forensische Bedeutung. Diese Nachweismethode hat sich auf diesem Gebiet kaum geändert. Für die Cytodiagnostik erfuhr diese Färbemethode in der Zwischenzeit mehrere Abwandlungen und dient heute nach Mack⁽²¹⁾ zur Anfärbung von Vaginalabstrichen mit Joddampf. Die im weiteren Verlauf der Zeit entwickelten cytochemischen Polysaccharidfärbungen, wie etwa die Best'sche Carminfärbung⁽³¹⁾, Polysaccharidreaktion nach Bauer⁽³¹⁾, Perjodsäureoxidation-Schiff⁽³⁹⁾ und Bleitetraacetat-Schiff⁽³⁹⁾ wurden in erster Linie zum Nachweis von Glykogen im Zellverband angewandt und nur vereinzelt - mit unbefriedigenden Ergebnissen - in der Cytodiagnostik eingesetzt. In Untersuchungen mit Vaginalepithelien aus Abstrichen und Stoffproben (Technik siehe Experimenteller Teil) prüften wir die Tauglichkeit dieser Färbemethoden zum Nachweis freier Epithelien.

Die Vielzahl der angegebenen Glykogenfärbemethoden erlaubt keinen unbedingten Rückschluss auf die Quantität des Zellglykogens, da neben Glykogen auch noch andere, evt. im Cytoplasma vorkommende höhermolekulare Polysaccharide zur Darstellung gelangen. Bei dem Versuch den Nachweismethoden eine größere Spezifität hinsichtlich des Glykogens abzugewinnen, wurde das im Cytoplasma gelegene Glykogen

enzymatisch mit Hilfe von Diastase abgebaut. Bei Anwesenheit von Glykogen blieb bei der nachfolgenden Färbung mit den entsprechenden Farbstoffen eine Anfärbung der Epithelien im Gegensatz zu den Kontrollpräparaten aus. Da im Speichel ebenfalls Diastase (Ptyalin) enthalten ist, konnte mit Erfolg auch Speichel in verdünnter oder unverdünnter Form verwendet werden. Diese Methode, wie sie Merkel⁽²⁴⁾ als einer der ersten angegeben hatte, wird auch heute noch viel in der forensischen Medizin angewandt.

In der vorliegenden Arbeit gelangten glykogenhaltige Epithelzellen von unverhorntem mehrschichtigen Platten- und Übergangsepithel zur Untersuchung, soweit sie mit Sekreten oder durch mechanische Manipulationen die Körperoberfläche erreichen, an Kleidungsstücken haften können und damit auch für einen Spurennachweis wichtig werden.

Flüssigkeiten, wie Mundspeichel und Vaginalsekret, die leicht an die Körperoberfläche gelangen und differentialdiagnostisch wichtig, aber auch besonders schwierig sind, sollen hinsichtlich ihrer Bestandteile noch einmal einander gegenüber gestellt werden. Im Vaginalsekret mischen sich abgestoßene, bzw. abgeschilferte Epithelien aus der Vagina und der Portio mit Flüssigkeiten und Zellen aus dem Lumen des Uterus und des Cervixkanals (Smolka und Soost⁽³⁸⁾). Damit handelt es sich hauptsächlich um Plattenepithelien, endocervicale Zylinderzellen

(sekretorische und Flimmerzellen) und Endometriumzellen. Hinzu kommen weiterhin Leukozyten, Lymphozyten und Histiocyten, die ständig durch die Schleimhäute hindurchwandern, sowie Erythrozyten bei Menstruation oder pathologischen Veränderungen. Vereinzelt trifft man Fremdkörperriesenzellen an, immer jedoch Döderlein'sche Stäbchen und eingeschleppte Fremdkeime je nach dem Reinheitsgrad der Vagina. Der p_H -Wert des Vaginalsekrets liegt bei p_H 3,5- 4,2.

Der Speichel als dünnflüssiges schleimiges Sekret enthält neben den gelösten Stoffen und Ptyalin ebenfalls Epithelien und Bakterien, die sich mikrobiologisch nicht von denen in der Vagina vorkommenden unterscheiden lassen. Der p_H -Wert des Mundspeichels schwankt zwischen p_H 6,2 und 7,2.

III. EXPERIMENTELLER TEIL

1. CYTOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN:

a) Untersuchungsmaterial:

Um einen orientierenden Überblick über die differentialdiagnostisch in Frage kommenden Epithelzellen aus den Organbezirken zwischen den Labien, Scheidenvorhof, Vagina, hinteres Scheidengewölbe, weibliche und männliche Harnröhre, Rectum und Mundschleimhaut zu gewinnen, wurden mit Hilfe eines Spatels und flexiblen Kunststoffkatheters Abstriche von Leichen angefertigt und nach Fixation und Anfärbung mikroskopisch ausgewertet.

Dabei gelangten Epithelzellen von insgesamt 44 weiblichen und 17 männlichen Leichen zur Untersuchung. Die Altersgrenzen der weiblichen Leichen lag zwischen 19 und 67 Jahren, bei den männlichen Leichen zwischen 14 und 53 Jahren. Die Zeitspanne zwischen Todeseintritt und Zellentnahme betrug zwischen 8 und 42 Stunden.

Ferner wurden Abstriche aus Mundhöhle und Vagina von geschlechtsreifen Frauen angefertigt und Epithelien aus Stoffproben (Taschentuch, Kleidung) eluiert und vergleichend mikroskopisch untersucht.

b) Fixation:

Das in Form von Abstrichen bei Leichen gewonnene Material wurde teils direkt auf mit Äther gereinigte Objektträger aufgebracht und luftgetrocknet, teils in Fixationslösungen wie Äther-Alkohol ($\bar{a}\bar{a}$), Lösung nach Carnoy oder Gendre (Romeis⁽³¹⁾) fünf Minuten fixiert und - zur besseren Darstellung einzelner Zellelemente - als zellige Aufschwemmung ähnlich einem Blutausstrich auf Objektträger aufgetragen.

Lebensfrisch entnommenes und sofort auf gereinigte Objektträger ausgestrichenes Material wurde mit einer der oben angeführten Fixationslösungen kurz fixiert, in der Mehrzahl der Fälle jedoch luftgetrocknet.

Spuren aus Stoffproben wurden nach der von Merkel⁽²⁴⁾ angegebenen Methode mittels Scherenschlag aus verdächtigen Stellen entnommen und als Zupfpräparat in physiologischer Kochsalzlösung oder direkt in der Farblösung auf Objektträger aufgebracht. In einem Teil der Fälle wurden größere Stoffbezirke in physiologischer NaCl-Lösung oder Äther-Alkohol ($\bar{a}\bar{a}$) ausgewaschen und der Filtrerrückstand der Waschflüssigkeit auf eluierte Zellelemente untersucht.

Um ein Ablösen der Zellelemente des Ausstrichpräparats bei der folgenden Anfärbung zu verhindern, wurde ein Teil der Objektträger mit einer Eiweiß-Glycerin-Lösung bestrichen und nach Aufbringen des

Zellmaterials durch kurzes Erhitzen über einer Bunsenflamme fixiert, zum Teil wurden die Objektträgerabstriche mit einer dünnen 2%igen Celloidin-Schicht versehen.

c) Färbemethoden:

Zur Anfärbung glykogenhaltiger Epithelien wurde in Vorversuchen außer der vielfach geübten Jodmethode die Tauglichkeit der sonst hauptsächlich im Schnittpreparat verwendeten Glykogenfärbungen untersucht.

Mit Hilfe der Lugolschen Lösung läßt sich im cytologischen Glykogennachweis eine mehr oder weniger starke braune Anfärbung glykogenhaltiger Zellen erreichen. Sie fand ihre Anwendung an Ausstrichen von Lebenden und Toten, sowie an Spurenmaterial in einer nach dem DAB 6 hergestellten Form oder der von wiegmann⁽⁴³⁾ angegebenen verdünnten Lösung.

Eine Abwandlung dieser Methode stellt die färbende Behandlung mittels Joddampf dar (Pineda⁽²⁷⁾), die jedoch mehr für direkte Ausstriche geeignet zu sein scheint.

Bei der Best'schen Carminfärbung wurde, um eine morphologisch vergleichende Beobachtung zu erleichtern, nach der Fixierung eine Kernfärbung mit Hämalaun durchgeführt. Die Carminfärbung anschließend für 10-12 Minuten (Spannhoff⁽³⁹⁾).

Die mit 4%iger Chromsäurelösung und fuchsinschwefliger Säure durchgeführte Polysaccharidreaktion nach Bauer (Romeis⁽³¹⁾, Spannhoff⁽³⁹⁾) wird vielfach als spezifischer Glykogennachweis angesehen. Der Grund hierfür liegt darin, daß sich in Schnittpräparaten und bei genau festgelegter Einwirkungsdauer der Chromsäure das Glykogen als einfaches Polysaccharid recht intensiv rot, andere und zusammengesetzte Polysaccharide dagegen weniger intensiv anfärbbar sind. Die Chromsäure oxydiert die Hydroxylgruppen des Substrates zu Aldehyden. Wird die Einwirkung der Chromsäure zu diesem Zeitpunkt nicht gestoppt, läuft die Oxydation weiter und führt zur Bildung von Carboxylgruppen und zur Spaltung der Substanz. Die erwünschte histochemische Reaktion kann aber nur ablaufen, wenn die Chromsäure nicht zu lange einwirkt, sodaß die entstandenen Aldehyde mit der fuchsinschwefligen Säure den gewünschten Farbkomplex bilden können. Die Spezifität der Probe wird weiter dadurch eingeengt, daß die hierbei als reaktionsfähig in Frage kommenden OH-Gruppen nahezu überall anzutreffen sind und Bestandteile von Kohlehydraten, Aminosäuren, Steroiden, Zerebrosiden, Proteinen und Phosphatiden sind. Es sind dies vor allem unsubstituierte 1,2 Glykole und deren Oxydationsprodukte, 1-Hydroxy-2-Aminogruppen und 1-Hydroxy-2-Alkyl-Aminogruppen.

Dieser Polysaccharidreaktion ist im chemischen Ablauf die Perjodsäure-Schiff-Reaktion (Spannhoff⁽³⁹⁾) zu vergleichen, ohne jedoch die oben beschriebene ausgedehnte Oxydationswirkung zu zeigen. Sie beruht ebenfalls auf der primären Bildung von Aldehyden, die mit dem farblosen Schiff'schen Reagens einen Farbkomplex zu bilden vermögen.

Schließlich wandten wir uns noch der Papanicolaou-Färbung zu (Smolka und Soost⁽³⁸⁾), um zu prüfen, inwieweit sich Ausstriche von Plattenepithel auf diesem Wege näher differenzieren lassen. Nach den geforderten Kautelen (Smolka und Soost⁽³⁸⁾) wurden hierfür Abstriche aus der Mundhöhle und der Vagina angefertigt.

d) Cytologische Ergebnisse:

Zur Ermittlung einer optimalen Glykogenfixation wurden die Fixationslösungen Äther-Alkohol, Formol-Alkohol, die Flüssigkeiten nach Gendre und Carnoy (Romeis⁽³¹⁾) an Vaginalepithelien angewandt und gegen 0,9%ige NaCl-Lösung ausgewertet. Nach Anfärbung der Zellen mit Lugolscher Lösung (DAB 6) ergaben sich folgende Unterschiede:

Das beste Fixationsergebnis bezüglich einer Stabilisation des intrazellulären Glykogens gegenüber wässrigen Lösungen zeigten die Fixierungsflüssigkeiten nach Gendre und Carnoy (Romeis⁽³¹⁾). Die Einzelzellen werden gut dargestellt und sind in der Regel ziemlich gleichmäßig mittel- bis dunkelbraun gefärbt. Die Gendre'sche Flüssigkeit scheint im Vergleich zur Carnoy'schen das Zelleiweiß stärker zu denaturieren und damit auch eine Glykogenverlagerung innerhalb des Cytoplasmas in Richtung auf den Kern hervorzurufen. Denn im Vergleich zu den anderen Versuchsreihen ist bei dieser Fixation häufiger ein mehr oder weniger breiter Rand an der Peripherie der Zelle zu beobachten. Beide Fixationslösungen, insbesondere aber die nach Gendre, machen das Glykogen innerhalb der Zelle schwer angreifbar und für wässrige Lösungen nahezu unlöslich.

Mit Äther-Alkohol läßt sich ebenfalls eine gute Fixation des Zellglykogens bei gleichzeitigem Erhalt

der morphologischen Spezifität des Zelltyps erreichen. Gegenüber den Fixationslösungen nach Gendre und Carnoy⁽³¹⁾ hält jedoch bei Verwendung von Äther-Alkohol die Fixationswirkung nur kurze Zeit an.

Eine für glykogenhaltige Vaginalepithelien weniger günstige Fixationslösung war nach unseren Erfahrungen die Formol-Alkohol-Lösung. Bei sicher gleichem Glykogengehalt der einzelnen Epithelien kam es zu einem teilweisen Glykogenschwund, der mit einer geringeren Anfärbbarkeit mit Lugolscher Lösung einherging. Wurden derart fixierte Abstrichpräparate für einige Zeit in einer feuchten Kammer aufbewahrt, so trat innerhalb von 4-8 Stunden ein völliger Glykogenschwund ein.

Wurden Vaginalepithelien aus frischen Abstrichen geschlechtsreifer Frauen in physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmt, so zeigte sich in vergleichenden Untersuchungen, die alle 5 Minuten durchgeführt wurden, schon nach 40 Minuten (bei Zimmertemperatur) ein beträchtlicher Glykogenverlust. Wurden gleichartige Vaginalepithelien im Thermostaten bei 37°C aufbewahrt, so trat innerhalb des genannten Zeitraumes ein völliger Glykogenschwund ein.

Demgegenüber scheint das cytoplasmatische Glykogen in luftgetrockneten Zellen - und entsprechend wohl auch in Stoffspuren - in eine stabilere Form überzugehen, die relativ schwer anzugreifen ist. Dies macht es verständlich, daß das Polysaccharid

bei trockenen Umweltsbedingungen - nicht in Flüssigkeiten und feuchten Kammern - nahezu unbegrenzt haltbar und nachweisbar ist. Vaginalepithelien aus Stoffproben, die bei Raumtemperatur und -feuchtigkeit gelagert wurden, waren noch nach einem dreiviertel Jahr nach Art und Intensität der Zellanfärbung als Vaginalepithelien erkennbar.

Frisch entnommene und in Flüssigkeiten, auch Fixierungslösungen aufgeschwemmte Zellausstriche zeigen, abhängig von der Umgebungstemperatur, nach kürzerer oder längerer Zeit Fäulniserscheinungen, denen ein entsprechender Glykogenschwund nahezu parallel geht.

Die oben erwähnte Zellabblassung auf Grund eines nachgewiesenen Glykogenschwundes ist nicht mit der bei der Jodfärbung schon nach wenigen Minuten infolge Lichteinwirkung auftretenden Abblassung der angefärbten Zellen zu verwechseln. Damit ist gleichzeitig der Nachteil dieser sonst klaren und technisch einfachen Methode aufgezeigt.

Zur Färbung wurde die Lugolsche Lösung den anderen histochemischen Reaktionen vorgezogen, da sie als einzige eine deutlichere Abstufung in der Farbskala der Anfärbung der Zellen aufweist. Diese unterschiedliche Anfärbbarkeit der Zellen, wie sie in den einzelnen Abstrichen beobachtet werden konnte, läßt Rückschlüsse auf den Glykogengehalt, bzw. die Glykogenverteilung innerhalb der Zelle zu. Im normalen

Ausstrichpräparat findet man bei mikroskopischer Betrachtung neben wenig ungefärbten Zellen und Zelldetritus, mehrere gelb bis hellbraun angefärbte, rundliche bis längliche Zellen, deren Kerne stark pyknotisch sind oder gänzlich fehlen. Die Mehrzahl der Sichtbaren Epithelien imponieren als große polygonal geformte, mittel- bis dunkelbraun gefärbte Zellen, deren verhältnismäßig runder Kern meist zentral gelegen und nicht angefärbt ist.

Bei vergleichenden Untersuchungen an Abstrichen von verschiedenen Organbezirken von Leichen fanden sich dabei mit Hilfe der Jodmethode und auch der Joddampfmethode eine deutliche Zunahme der Farbintensität in Vagina und Fornix gegenüber den anderen Organbezirken. Dieser Befund war mit anderen Färbemethoden, wie Bestsches Carmin, PAS und ChS nicht sicher zu erheben, vielmehr fanden sich hier bei den Abstrichen aus den genannten Organbezirken neben wenigen ungefärbten Zellen, blassrot oder rosa und intensiv rot angefärbtes Zellcytoplasma. Das mikroskopische Bild Schwankte bezüglich der positiven Strukturen, die hier für das überwiegende Vorhandensein von Glykogen sprechen dürften, je nach dem Ort der Entnahme und nimmt lediglich nach Zahl der angefärbten Zellen von der Mundhöhle über die Harnröhre bis zur Vagina deutlich zu.

Dabei entsprechen sich jedoch nicht in allen Färbemethoden die jeweils schwächer und stärker angefärbten Zellen. Die Farbintensität des Cyto-

plasmas ist nach der PAS- und ChS-Färbung bei Zellen aus jeweils gleichen Organbezirken deutlich vermehrt gegenüber Färbungen nach Jod oder Best. Diese Beobachtung ließe sich durch den Chemismus im Ablauf der Färbereaktion oder aber im Sinne einer weiteren Erfassung von nicht polysaccharidartigen Substanzen deuten.

Interessant aber an dem vorliegenden Ergebnis ist der im Gegensatz zu Merkel⁽²⁴⁾ und entsprechenden Literaturstellen erhobene Befund, daß glykogenhaltige Zellen auch außerhalb der Vagina vorkommen. Dabei sind es vor allem die Epithelien aus Mundhöhle, Harnröhre und Rectum, die differentialdiagnostisch im Rahmen der Spurenkunde eine Rolle spielen. Eine Eingrenzung des vorliegenden Problemkreises wurde deshalb zunächst mit Hilfe von Studien über die morphologische Struktur der Epithelzellen aus den angeführten Organbezirken versucht.

Die im Vaginalausstrich geschlechtsreifer Frauen (lebend) vornehmlich in der zweiten Zykushälfte beobachtete Erscheinungsform der scholligen, an den Rändern aufgeworfenen (durch Turgorverlust) Epithelzelle konnte in Ausstrichen von Toten oder in Vaginalzellspuren des gleichen Typs nicht gefunden werden. In allen angefertigten Zellausstrichen finden sich artifizielle Zelldeformierungen, ganze oder teilweise Zellzerstörungen, sowie Zellüberlagerungen, wie sie auch in Spuren gefunden werden können. Derartige

Bilder können nicht zu einer diagnostischen Verwertung herangezogen werden.

Gemeinsam ist allen Zellausstrichen aus den oben angeführten Organbezirken, daß sie - wie vergleichende Untersuchungen an männlichen und weiblichen Leichen ergeben haben - über eine jeweils schwankende Prozentzahl ungefärbter oder nur wenig gefärbter Zellen verfügen. Dieser auffallende Befund ist prozentual am stärksten bei Epithelien von der Pars analis recti und der Fossa navicularis der männlichen Harnröhre.

Ausstriche von Lebenden aus dem Rectumbereich zeigen in der überwiegenden Anzahl (etwa 70 - 80%) mit Best'schem Carmin und Jod nicht anfärbbare Epithelien (Fixierung nach Carnoy und luftgetrocknet), die zwar die Form und die Größe von unverhornten Plattenepithelzellen besitzen, aber in etwa der Hälfte keinen Kern mehr aufweisen. In anderen Fällen ist der Kern stark pyknotisch.

Die Plattenepithelien aus der Fossa navicularis der männlichen Harnröhre (von Toten) waren bei den gleichen Bedingungen ebenfalls nicht oder nur gering angefärbt. Sie wiesen - im Gegensatz zur Pars analis recti - nahezu in allen Fällen kleine, runde, zentral gelegene Kerne auf.

Beiderlei Abstriche enthielten wesentlich weniger Zellen als die Entnahme aus den übrigen Organ-

bezirken aufweisen konnte. Dieser geringe Prozentsatz des Vorkommens und die mangelnde Anfärbbarkeit der Epithelien der Pars analis recti und der Fossa navicularis schränkt den Kreis der differentialdiagnostisch in Erwägung gezogenen Zellen weniger von der Morphologie als nach den Gesetzen der Wahrscheinlichkeit ein.

Eine prozentual beträchtliche Anzahl wenig gefärbter Epithelien finden sich in der Mundhöhle, Harnröhre und im Bezirk zwischen den Labien.

Das Übergangsepithel der Harnröhre scheint - entsprechend unseren Befunden mit Best'schem Carmin und Jod gefärbten und mit Äther-Alkohol und Carnoy fixierten Abstrichpräparaten - in seinem Glykogenegehalt zu schwanken. Vergleichende Untersuchungen an Ausstrichen von 17 männlichen und 40 weiblichen Leichen (Todeszeit 8 - 42 Stunden) ergab, daß die Ausstriche von Frauen prozentual mehr dunkel (Jod) gefärbte Zellen enthielten, als die der männlichen Individuen. Ferner schienen die Ausstriche mit steigender Zeitspanne bis zur postmortalen Entnahme an Farbtintensität abzunehmen. Dies wird nach mindestens 15 Stunden deutlich und läßt einen postmortalen Glykogenschwund des Übergangsepithels vermuten. Ursache des relativ schnellen Glykogenabbaus und seine eventuelle Beeinflussung von seiten der Temperatur konnten nicht geklärt werden. Auch blieb ungeklärt, inwieweit eine

hormonelle (Östrogene) Beeinflussung des intracellulär vermehrt auftretenden Glykogens im Harnröhrenepithel weiblicher Individuen zu diskutieren ist.

Die Abgrenzung des Übergangsepithels gegenüber dem Plattenepithel speziell der Vagina kann sich nicht allein auf die unterschiedliche Anfärbbarkeit der Zellen stützen, sondern sie gründet sich hauptsächlich auf das morphologisch unterschiedliche Aussehen der Epithelien. Gegenüber den polygonalen Oberflächenzellen des Plattenepithels mit kleinem rundem Kern sind diejenigen des Übergangsepithels in der Regel rund oder mehr oval, etwa 1 1/2 mal kleiner und mit deutlich sichtbarem, häufig vakuolisiertem, ebenfalls zentral gelegenen Kern. Letztere sind nur wenig größer als die Basal- und Parabasalzellen des Plattenepithels und besitzen die 3-5 fache Größe eines polymorphkernigen Leukozyten. Eine rein morphologische Unterscheidung gegenüber den genannten Zellen ist unmöglich, doch scheiden in der medizinischen Spurenkunde die tief liegenden Basal- und Parabasalzellen zugunsten der Superficialis- und Intermediärzellen differentialdiagnostisch aus.

Die Unterscheidung von unverhornten Plattenepithelien aus den verschiedenen Organbezirken bietet die größten Schwierigkeiten: Die aus dem Verband gelösten Epithelien aus Mundhöhle und Vagina gleichen sich in Größe, Form und Kernlage völlig. Die Anfärbbarkeit ist unterschiedlich und zwar sowohl zwischen

Vaginalepithelien und Zellen der Mundschleimhaut, als auch innerhalb der Mundepithelien. Bei Wangenschleimhaut- und Gaumenabstrichen von Leichen wurden in zwei Drittel der Untersuchten Fälle mit Lugol'scher Lösung (luftgetrocknet, Fixation nach Carnoy) bis mittelbraun angefärbte Zellen gefunden. Abstrichbilder der gleichen Stellen von 18 Lebenden wiesen nur in 6 Fällen gering angefärbte Epithelien auf.

In luftgetrockneten Speichelausstrichen von Lebenden und in gleichartigen Stoffspuren ließen sich die vorhandenen Plattenepithelien praktisch nicht anfärben, während sie hier wie auch in den zuletzt genannten Fällen eine deutlich positive Reaktion mit der Bauerschen Polysaccharid-Reaktion und mit der PAS-Färbung zeigten. Dieser Befund ist entweder auf den chemischen Ablauf der Reaktion zurückzuführen und damit Hinweis und Maßstab auf eine größere Empfindlichkeit der letztgenannten Färbemethoden, oder aber im Sinne des eingangs erwähnten chemischen Ablaufs eine Reaktionserweiterung mit einer hier unerwünschten Lenkung des Ergebnisses. Die unterschiedlichen Untersuchungsergebnisse mit Mundepithelien von Lebenden und Toten lassen sich durch die Wirkung und Aktivität der im Speichel vorhandenen Amylase (und ihrer postmortalen Inaktivierung) erklären. Dagegen sehen neuere Theorien bei abgelösten, intakten (lebenden) Epithelien im Verbrauch ihrer Energiereserve in Form von Glykogen einen Weg der Zelle zum längeren Überleben.

Auf der Suche nach weiteren Differenzierungsmerkmalen zwischen den Plattenepithelien der Vagina und der Mundhöhle wurden jeweils 11 frisch entnommene und sofort mit Äther-Alkohol fixierte Abstriche von geschlechtsreifen Frauen nach Papanicolaou gefärbt und miteinander verglichen. Unterschiede in der Morphologie oder Anfärbbarkeit der Zellen konnten nicht festgestellt werden. Die Bilder glichen einander nahezu völlig: die einzelnen Zyklusstadien sind auch am Mundepithel abzulesen.

Wie aus den angegebenen Untersuchungsergebnissen hervorgeht, lassen die Epithelien aus den Organbezirken Vagina und Mundhöhle keine sich auf morphologische Besonderheiten stützende Identifizierung zu.

Um dennoch eventuell bestehende Unterscheidungsmerkmale, die mit den bisher angewandten Methoden nicht erfaßt werden konnten, aufzudecken, wandten wir uns einer enzymatischen Untersuchungsmethode zu, um aus dem quantitativen intracellulären Glykogen-vorkommen in den verschiedenen Epithelien ein Kriterium für die Unterscheidung zu finden.

2. Cytochemische Untersuchungen:

Die im letzten Kapitel beschriebenen und für den histochemischen Glykogennachweis gebräuchlichen Färbemethoden und -reaktionen (Jodprobe, Carminfärbung nach Best, Bauersche Polysaccharidreaktion und Perjodsäure-Schiff-Reaktion) sind für Glykogen nicht spezifisch. Um dennoch zu exakten und differentialdiagnostisch verwertbaren Aussagen bezüglich des Glykogenvorkommens in einzelnen Epithelzellen zu gelangen, wurde ein substratspezifisches Enzym angewandt.

Dieses Enzym, die Amylase oder Diastase spaltet das aus  Glykolen aufgebaute Glykogen in Disaccharide. Mit dieser Enzymreaktion ist es möglich, mit Jod angefärbtes Zellglykogen abzubauen und damit indirekt einen Glykogennachweis zu erbringen. Andererseits kann durch diese Enzymreaktion am ungefärbten Untersuchungsmaterial nach Abbau des Glykogens durch eine entsprechende Glykogenfärbung aus mangelnder Anfärbbarkeit gegenüber einem Kontrollpräparat auf die Glykogenlokalisation geschlossen werden.

Deshalb findet in den letzten Jahren zunehmend menschlicher Speichel unter Ausnützung der in ihm enthaltenen Amylaseaktivität auch in der forensischen Medizin seine Verwendung. Doch ist gerade hier die Methode nicht nur unhandlich, sondern führt auf

dem Gebiet der Spurenkunde durch zusätzliche Zellbeimischungen zu beträchtlichen Fehlerquellen.

In entsprechenden Vorversuchen war zunächst die Frage zu klären, inwieweit das cytoplasmatische Glykogen in Zellausstrichen nach vorausgegangener Fixation durch wässrige Lösungen (Diastaselösungsmittel) aus dem Zellplasma extrahiert wird. Bei den nach Carnoy⁽³¹⁾ fixierten Ausstrichpräparaten kam es selbst nach längerem Stülen in aqua dest., physiologischer NaCl-Lösung und sek. Phosphatpuffer (pH = 6,8) zu keinem intraplasmatischen Glykogenschwund. Für die im folgenden angegebenen Untersuchungen fand daher ausschließlich die Carnoysche Fixationslösung ihre Anwendung. Damit kann ein intrazellulärer Glykogenverlust bei Behandlung mit Diastase sicher als Enzymreaktion angenommen und quantitativ ausgewertet werden.

Zur Anwendung gelangte eine 0,1 , 0,5 und 1,0%ige Diastaselösung (Diastase "Merck"). Als Lösungsmittel diente 0,1 m Phosphatpuffer (Na_2HPO_4 und NaH_2PO_4) pH 6,8. Die Zeitdauer der Diastaseeinwirkung erstreckte sich bis zu 90 Minuten. Der Diastasetest wurde bei Raumtemperatur und im Thermostaten bei 37°C, jeweils nach Filtrierung der frisch angesetzten Lösung durchgeführt. Weitere Ausstriche wurden zur Kontrolle im Leerversuch den gleichen

Bedingungen, doch ohne Diastasezusatz unterworfen. Der im Diastase- und im Leerversuch gefundene Glykogengehalt wurde gegen Ausstriche ausgewertet, die mit Lugolscher Lösung, Bestschem Carmin oder nach der Perjodsäure-Leukofuchsin-Technik wie im vorhergehenden Abschnitt gefärbt worden waren.

Die Fixation der Zellen an die Objektträger erfolgte ausschließlich mit einer Eiweiß-Glycerinlösung, da die 2%ige Celloidinschicht - wie eine Versuchsreihe mit Ausstrichen von Toten ergab - in nicht genügendem oder unterschiedlichem Maße für das Enzym durchgängig war.

Bei drei Frauen im Alter von 25 bis 35 Jahren wurden durchschnittlich alle drei Tage innerhalb des ablaufenden Zyklus (Schwankungsbreite 23 - 28 Tage), mit Ausnahme der Menstruationszeit, Abstriche von der Wangenschleimhaut und der Vagina angefertigt. Jeweils 8 Ausstriche aus den genannten Organbezirken wurden unter Verwendung der Lugolschen Lösung und der Perjodsäure-Schiff-Technik einem Kontroll-, Leer- (Pufferlösung ohne Diastasezusatz) und Diastaseversuch (0,5%ige Diastaselösung, 0,1 m Phosphatpuffer p_H 6,8) unterworfen.

Das Ergebnis des Kontroll- und Leerversuchs ergab gleiche Resultate, sowohl bei Mundepithelien, als auch bei Vaginalepithelien. wie bereits oben aus-

geführt, färbten sich die Epithelien des Mundes schwächer an, als die der Vagina. Nach enzymatischem Abbau des intrazellulären Glykogens und anschließender Oxydation und Färbung mit der PAS-Technik bei Ausstrichen aus der Vagina und aus der Mundhöhle, ergaben sich folgende Unterschiede:

In 56 von 72 untersuchten Ausstrichen in der 2. Hälfte des Zyklus trat eine Perjodsäure-Reaktion trotz Vorbehandlung mit gepufferter Diastaselösung über 10 Minuten ein. Über den Zeitraum der Entnahme, bzw. des Zyklus bis zum Beginn der neuen Menstruation war eine Vermehrung der Zahl und der Intensität der mit Jod angefärbten Zellen nur bei Vaginalepithelien zu beobachten.

Die Hydrolysegeschwindigkeit (Abbau durch die oben angegebene Diastaselösung) des cytoplasmatischen Glykogens war nach Färbung mit Lugolscher Lösung (DAB 6) um durchschnittlich eine Minute in der Sekretionsphase gegenüber der Proliferationsphase erniedrigt. Aus diesem Ergebnis kann der Schluß gezogen werden, daß dem verlängerten enzymatischen Abbau ein entsprechend höherer Glykogengehalt in den einzelnen Epithelien am Ende des Menstruationszyklus adaequat ist.

Derartige Befunde waren an den mit Lugolscher Lösung deutlich schwächer gefärbten Epithelien aus der Mundhöhle nicht zu beobachten.

Als Untersuchungsmaterial dienten ferner jeweils

18 Abstriche aus Mundhöhle, Urethra und Vagina von weiblichen Leichen. Das intrazelluläre Glykogen wurde nach vorangegangener Färbung mit Lugolscher Lösung mit 0,1%iger Diastaselösung in 0,1 m Phosphatpuffer p_H 6,8 bei Zimmertemperatur abgebaut. Dabei ergab sich keinerlei morphologische Aussagekraft hinsichtlich einer, beispielsweise in Kernnähe bevorzugten Glykogenlokalisation oder einem Hinweis auf einen Unterschied im Glykogenabbau bei den einzelnen Epithelarten. Der Abbau erfolgte von der Zellperipherie zum Kern hin, und zwar ziemlich gleichmäßig, wenn die Zelle frei lag, relativ weniger schnell an Stellen, an denen die betreffende Zelle einer Zellgruppe unmittelbar anlag.

Abbauversuche unter den gleichen Bedingungen im Thermostaten bei 37°C zeigten gegenüber denen bei Zimmertemperatur - unter den sonstigen oben angegebenen Versuchsbedingungen - eine erniedrigte Hydrolysegeschwindigkeit.

In einer abschließenden Versuchsreihe wurden wiederum jeweils 12 Abstriche aus Mundhöhle, Urethra und Vagina von weiblichen Leichen (Todeszeit 10 - 34 Stunden) unter Nichtbeachtung der Zykluszeit nach Carnoy fixiert und mit Lugolscher Lösung gefärbt. Anschließend wurde das cytoplasmatische Glykogen sofort mit 0,5%iger gepufferter Diastaselösung bei parallel laufenden Kontrollversuchen abgebaut. Die ca. 25% bis mittelbraun gefärbten und differentialdiagnostisch am schwersten von Vaginalepithelien

zu unterscheidenden Epithelien aus der Mundhöhle, zeigten den vollzogenen intrazellulären Glykogenabbau im Durchschnitt nach spätestens 3 Minuten durch Farblosigkeit an. Bei den kleineren und mehr rund als polygonal geformten Epithelien aus der Harnröhre war der enzymatische Abbau des Glykogens ebenfalls nach einer Zeitspanne von 3-4 Minuten vollzogen. Die Zellen aus der Vagina, bzw. aus dem Fornix vaginae benötigten dagegen im Durchschnitt 5 (4-7) Minuten zur völligen Farbabblassung.

Durch die hier eindeutig beobachtete verringerte Hydrolysegeschwindigkeit bei Vaginalepithelien, entsprechend ihrem höheren Gehalt an Glykogen gegenüber anderen unverhornten Plattenepithelien aus anderen Körperbereichen, ergibt sich ein Weg zur Identifizierung von Vaginalepithelien im Spurennachweis.

IV. Diskussion

Da außer der von Merkel⁽²⁴⁾ angegebenen, vielfach geübten Nachweismethode für Vaginal epithelien, die bezüglich ihres Aussagewertes nicht zu hoch eingeschätzt werden darf, keine anderen Möglichkeiten zum Nachweis derartiger Epithelien bekannt wurden, stellt sich in der Diskussion der, in den vorangegangenen Untersuchungen erhobenen Befunde die Frage, ob aus den zunächst rein morphologischen Vergleichen von Epithelien aus verschiedenen Organbezirken verwertbare Unterscheidungsmerkmale für die jeweiligen Epithelzelltypen abgeleitet werden konnten.

Diese Frage kann nur bedingt bejaht werden. Insofern, als es lediglich möglich war, zwei Zelltypen abzugrenzen: Die Epithelien der Pars analis recti und der männlichen Harnröhre auf Grund der geringen anfärbbarkeit des Cytoplasmas und ihrer Zellkerne, die bei den Epithelien der Rectumschleimhaut in 70-80% der untersuchten Fälle gänzlich fehlten oder stark pyknotisch waren und die bei den Epithelien der Fossa navicularis der männlichen Harnröhre im Vergleich mit den Epithelien aus den anderen Organbezirken kleiner waren. Gleichzeitig erlaubte die Feststellung, daß diese Epithelien aus dem Rectum und aus der männlichen Harnröhre in Abstrichen und Spuren in überaus geringer Anzahl vorkommen, eine differentialdiagnostische Vernachlässigung.

Für die überaus wichtige Abgrenzung von Vaginal-epithelien gegenüber Mundhöhlenepithelien, die wir im Gegensatz zu Merkel⁽²⁴⁾ glykogenhaltig fanden, ließen sich keine morphologischen Unterscheidungsmerkmale aufzeigen.

Da der Glykogengehalt sowohl der Vaginal- als auch der Mundhöhlenepithelien zyklusgebundenen Schwankungen unterliegt, war auf Grund der färberischen Glykogendarstellung keine sichere Differenzierung möglich. Mit Hilfe eines substratspezifischen Enzymtests gelang es, den durchschnittlichen quantitativen Glykogengehalt der Epithelien aus diesen Organbezirken zu erfassen, und aus den differierenden Hydrolysegeschwindigkeiten mit großer Wahrscheinlichkeit die wichtige Unterscheidung Vaginalepithelien-Mundhöhlenepithelien zu treffen.

V. Zusammenfassung

Die bisherigen in der Literatur angegebenen Untersuchungsergebnisse über die Vaginalepithelien im Verband und ihre Cytodiagnostik werden zusammengefaßt dargestellt und auf die bestehenden Charakteristika der einzelnen Zelltypen hingewiesen.

In vergleichenden Untersuchungen mit Abstrichen von Lebenden, Toten und aus Spuren, wurden die im Vaginalsekret und -abstrich sichtbaren Plattenepithelzellen aus der Vagina auf postmortale Veränderungen untersucht und mit gleichfalls unverhornten Plattenepithelien aus den Organbezirken der Pars analis recti, Fossa navicularis der männlichen Harnröhre und Lundschleimhaut, sowie mit den Übergangsepithelzellen der männlichen und weiblichen Harnröhre verglichen und auf morphologische Unterscheidungsmerkmale hin geprüft.

An Abstrichen aus den angegebenen Organbezirken wurde die bestmögliche Zell- und Glykogenfixation dieser Epithelien mit verschiedenen Fixationslösungen ermittelt und die gebräuchlichen, bisher meist auf glykogenhaltige Zellen im Verband angewandten Färbemethoden auf ihre Tauglichkeit für Abstrichpräparate hin untersucht.

Mit Hilfe aufgezeigter morphologischer und färbereischer Unterscheidungsmerkmale gelingt die Ab-

grenzung von Epithelien aus der männlichen und weiblichen Harnröhre, aus der Fossa navicularis der männlichen Harnröhre und aus der Pars analis recti gegenüber den Vaginalepithelien.

Die Anwendung eines substratspezifischen Enzyms (Diastase) führt zu Aussagen über den quantitativen Glykogengehalt von Vaginalepithelien und dessen zyklusbedingten Schwankungen. Gleichzeitig erlaubt dieser ausgearbeitete Diastasetest eine relativ sichere Unterscheidung zwischen Epithelien aus der Vagina und der Mundhöhle.

L I T E R A T U R

1. Alexiu, M.: Über die Physiologie der Vaginalschleimhaut bei Neugeborenen. Arch.Gynäk. 167, 240-252.(1938)
2. Ayre, W.B.: The glycogen - estrogen relationship in the vaginal tract. J.clin.Endocr. 11, 103-110 (1951)
3. Bargmann, W.: Histologie und Mikroskopische Anatomie des Menschen. Thieme Verlag 1962.
4. Bernard, C.: 1. De la matière glycogène considérée comme condition de développement de certain tissus chez le fœtus, avant l'apparition de la fonction glycogénique du foie. C.R.Acad. Sci.(Paris) 48, 673-684 (1859).
2. De la matière glycogène considérée comme condition de développement de certain tissus chez le fœtus, avant l'apparition de la fonction glycogénique du foie. J. Physiol. (Paris) 2, 326-337 (1859)
3. Sur une nouvelle fonction du placenta. C.R.Acad. Sc. 48, 77-86 (1859).
4. Sur une nouvelle fonction du placenta. J.Physiol. (Paris) 2, 31-41 (1859).
5. Botella-Llusiá, J. y Nogales, F.: Die Oberflächenmucifizierung des Epithels der Portio und der Scheide. Arch.Gynäk. 139, 382-386 (1956).
6. Clara, M.: Zur Histologie der lympho-epithelialen Symbiose (türkisch, deutsche Zusammenfassung). Bull. Fac. méd. Istanbul 16, 153-161 (1953).
7. Davis, M.E.: The treatment of senile vaginitis with ovarian follicular hormone. Surg. Gynec. Obstet. 61, 680-686 (1935).
8. Davis, M.E. and Pearl, S.A.: Biology of the human vagina in pregnancy. Amer. J. Obstet. Gynec. 35, 77-97 (1938).
9. Dewar, M.R.: 1. Glycogen deposits in gingival tissue. Science 120, 230 (1954).
2. Observations on the composition and metabolism of normal and inflamed gingiva. J. Periodont. 26, 29-39 (1955).
10. Dierks, K.: Experimentelle Untersuchungen an der menschlichen Vaginalschleimhaut. Arch. Gynäk. 133, 111 (1929).
2. Zur Frage des menstruellen Zyklus der menschlichen Vagina. Zbl. Gynäk. 54, 1882 (1930).
11. Dietz, G.: Gerichtliche Medizin. Johann Ambrosius Barth Verlag, Leipzig 1965
12. Me, H. J. van and Ch'en, G.: Observations on the biochemistry of the genital tract of the female macaque particularly during the menstrual cycle. Amer. J. Anat. 53, 473-499 (1936).

13. Ebner, H.J.: Zytotopochemie. Möglichkeiten und Grenzen der Anwendung histochemischer Reaktionen in der Zytologie.
Beitr. Krebsforsch. 4, 77-108 (1954).
14. Forbes, J.A. und Heinz, J.C.: Glycogen synthesis in human endometrium. A histochemical study using frozen-dried material.
Austr. N. Z. J. Surg. 22, 297-301 (1953).
15. Gisbertz, H.: Zur Morphologie der Glykogenablagerung im Vaginalepithel.
Mschr. Geburtsh. 84, 24-31 (1930).
16. Graumann, W. und Neumann, K.H.: Handbuch der Histochemie.
Bd. 2 Teil 2 (1964).
17. Herrnberger, K. und Horstmann, F.H.: Der Glykogengehalt des kindlichen Vaginalepithels und seine Veränderung nach Follikelhormongaben.
Arch. Gynäk. 108, 451-458 (1939).
18. Lajos, L. and Pali, K.: New data in the biochemistry of neoplasm of the female genitals.
Acta morph. Acad. Sci. hung. 2, 231-238 (1952).
19. Langhans, Th.: Über Glykogen in pathologischen Neubildungen und in menschlichen Eihäuten.
Virchows Arch. path. Anat. 120, 28-67 (1890).
20. Lilie, R.D. and Gréco, J.: Malt diastase and ptyalin in place of saliva in the identification of glycogen. Stain Technol. 22, 67-70 (1947).
21. Mack, H.C.: A new rapid method of staining vaginal smears based upon specific color reaction for glycogen.
Harper Hosp. Bull. 1, 54-56 (1942).
22. Matter, R.: Über histochemische Untersuchungen der Vaginalschleimhaut.
Gynaecologia (Basel) 139, 227-229 (1955).
23. Mc Laren, H.C.: The normal menopause.
J. Obstet. Gynaec. brit. Emp. 48, 1-40 (1941).
24. Merkel, H.: Über den Glykogengehalt des Scheidenepithels, seine diagnostische Bedeutung und deren kritische Bewertung.
Z. Ges. Ger. Med. 4, 1-8 (1924).
25. Müller, B.: Gerichtliche Medizin.
Springer Verlag 1953.

26. Patzelt, V.: 1. Die Ergebnisse einer Untersuchung über die Histologie und Histogenese der menschlichen Epiglottis unter besonderer Berücksichtigung der Metaplasiefrage.
Anat. Anz. 54, 161-184 (1921).
2. Über die menschliche Epiglottis und die Entwicklung des Epithels in den Nachbarorganen.
Z. Anat. Entwickl. Gesch. 70, 1-178 (1923).
27. Pineda, R.: Metodo practico de coloración de frotis vaginales.
Obstet. Gynec. lat.-amer. 3, 191-195 (1945).
28. Ponsold, A.: Lehrbuch der Gerichtlichen Medizin.
Georg Thieme Verlag 1957.
29. Pundel, J.P.: Les vaginaux endocriniens.
Masson, Paris 1952.
30. Robertson, D.C., Maddux, W.P. and Allen, E.: Ovarian hormone effects in ovaiectomized monkeys.
Endocrinology 14, 77-78 (1930).
31. Romeis, B.: Mikroskopische Technik.
Leibniz Verlag München 1948.
32. Sani, G.: Studio istochimico dei mucopolisaccaridi nella vagina in condizioni normali e sperimentali.
1. La reazione di Hotchkiss - Mc Manus e il suo comportamento dopo idrolisi con diastasi e jeluronidasi.
Riv. ital. Ginec. 36, 473-503 (1953).
33. Sani, G.: 2. La reazione di Hotchkiss - Mc Manus nell'epitelio vaginale della specie umana durante il climaterio e nell'età senile.
Arch. Sci. biol. 38, 15-25 (1954).
34. Schiller, W.: Leucoplakia, leucokeratosis, and carcinoma of the cervix.
Amer. J. Obstet. Gynec. 35, 17-38 (1938).
35. Schiele, A.: Das Glykogen in normalen und pathologischen Epithelien. Dissert. Bern 1880.
36. Schramm, B.: Glycogene et kératinisation dans différents épithéliums malpighiens.
C. R. Ass. Anat. 40, 645-647 (1953).
37. Simon, M.: Über das mikroskopische Verhalten des Glykogens in normalen menschlichen Schleimhäuten.
Diss. Med. Königsberg 1901.
38. Smolka, H. und Soost, H.: Grundriß und Atlas der gynäkologischen Zytodiagnostik.
Georg Thieme Verlag 1965
39. Spannhof, L.: Einführung in die Praxis der Histochemie.
VEB Fischer Verlag Jena, 21-34 (1964).

40. Stoll, P., Ebner, H. und Lindenschmidt, W.: Die Bedeutung histochemischer Methoden für die gynäkologische Histo- und Zytodiagnostik. Geburtsh. u. Frauenheilk. 14, 1065-1080 (1954).
41. Takamura, K.; Jshida, K. and Sakata, T.: On the histological figures and the glycogen in the mucous epithelium of the hymen during the period of pregnancy. Okajimas Folia anat. jap. 27, 373-381 (1955).
42. Themann, H.: Elektronenoptische Untersuchungen über das Glykogen im Zellstoffwechsel. Veröff. morph. Path. 66, 79-89 (1963).
43. Wiegmann, H.: Über den Glykogengehalt der Scheidenepithelien und seine diagnostische Bedeutung. Diss. med. München 1910.

Herrn Professor Dr. med. W. Spann, meinem verehrten Doktorvater danke ich für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung während dieser Arbeit.

Ebenso bedanke ich mich bei Herrn Professor Dr.med. W. Laves für die gute Arbeitsmöglichkeit im Institut sowie für die Übernahme des Coreferates.

Allen Mitarbeitern des Institutes sei für die stets bereite Hilfe Dank gesagt.

LEBENS LAUF

Am 21.8.1938 wurde ich, Monika Christiane Scheller geb. Knublauch, als Tochter des Oberst Werner Knublauch und seiner Ehefrau Hilde Knublauch geb. Hart in Berlin Zehlendorf geboren.

Nach bestandener Reifeprüfung vor dem Senator für Volksbildung im Jahre 1958 in Berlin, begann ich im Wintersemester 1958/59 an der Universität in Erlangen mit dem Studium der Medizin.

Nach 6 vorklinischen und 6 klinischen Semestern, die ich an den Universitäten der Städte Erlangen, Wien, Kiel und München studierte, legte ich im Dezember 1964 an der Universität in München die ärztliche Prüfung mit Erfolg ab.

Nach 6-monatiger Ausbildung als Medizinalassistentin am Pathologischen Institut der Universität München setzte ich meine weitere Ausbildung am Kreiskrankenhaus in Nürtingen, wo ich derzeit tätig bin, fort.

